

THERAPEUTIC AGENT FOR CORNEAL DISORDER

Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To examine the action of a compound having a Rho-activating action on corneal disorders, especially corneal epithelium extension, and to provide a therapeutic agent which is used for corneal disorders and contains the compound having the Rho-activating action as an active ingredient.

SOLUTION: This therapeutic agent for corneal disorders, such as an agent for stimulating the extension of corneal epithelium, contains a compound having a Rho-activating action. The compound having a Rhoactivating action includes lysophosphatidic acid and its acyl derivatives. The corneal disorders includes corneal ulcers, corneal epithelium ablation, corneitis and dry eye.

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号  
特開2000-264847  
(P2000-264847A)

(43) 公開日 平成12年9月26日 (2000. 9. 26)

(51) Int.Cl. <sup>7</sup>	識別記号	F I	テ-イコ-ト*(参考)
A 6 1 K 45/00		A 6 1 K 45/00	4 C 0 8 4
	31/661	31/661	4 C 0 8 6
A 6 1 P 27/02		A 6 1 P 27/02	

審査請求 未請求 請求項の数 5 O L (全 5 頁)

(21) 出願番号 特願2000-3087(P2000-3087)  
(22) 出願日 平成12年1月12日 (2000. 1. 12)  
(31) 優先権主張番号 特願平11-5420  
(32) 優先日 平成11年1月12日 (1999. 1. 12)  
(33) 優先権主張国 日本 (J P)

(71) 出願人 599009499  
西田 輝夫  
山口県宇部市大字西岐波396番地の2  
(71) 出願人 000177634  
参天製薬株式会社  
大阪府大阪市東淀川区下新庄3丁目9番19号  
(72) 発明者 西田 輝夫  
山口県宇部市大字西岐波396番地の2  
(72) 発明者 中田 勝彦  
奈良県桜井市大字箸中531番地の1  
(74) 代理人 100060874  
弁理士 岸本 英之助 (外4名)

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 角膜障害治療剤

(57) 【要約】

【課題】 R h o 活性化作用を有する化合物の角膜障害に対する作用、特に角膜上皮伸展に対する作用を調べ、R h o 活性化作用を有する化合物を有効成分とする角膜障害治療剤を提供する。

【解決手段】 本発明は、R h o 活性化作用を有する化合物を有効成分とする角膜障害治療剤、たとえば角膜上皮伸展促進剤である。R h o 活性化作用を有する化合物は、たとえばリゾホスファチジン酸またはそのアシル誘導体である。角膜障害は、たとえば角膜潰瘍、角膜上皮剥離、角膜炎、ドライアイである。

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 R h o 活性化作用を有する化合物を有効成分とする角膜障害治療剤。

【請求項2】 R h o 活性化作用を有する化合物がリゾホスファチジン酸またはそのアシル誘導体である請求項1記載の角膜障害治療剤。

【請求項3】 リゾホスファチジン酸のアシル誘導体がオレオイルリゾホスファチジン酸である請求項2記載の角膜障害治療剤。

【請求項4】 角膜障害が角膜潰瘍、角膜上皮剥離、角膜炎またはドライアイである請求項1から請求項3のいずれかに記載の角膜障害治療剤。

【請求項5】 R h o 活性化作用を有する化合物を有効成分とする角膜上皮伸展促進剤。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【発明の属する技術分野】本発明はリゾホスファチジン酸またはそのアシル誘導体等のR h o 活性化作用を有する化合物を有効成分とした、角膜上皮伸展の促進作用を有する角膜障害治療剤に関するものである。

## 【0002】

【従来の技術】角膜は直径約1 c m、厚さ約1 m mの透明な無血管の組織である。角膜の透明性は視機能に重要な影響を与えており、角膜における種々の生理生化学的現象は、主として角膜の透明性の維持ということを目的として機能している。

【0003】角膜潰瘍、角膜上皮剥離、角膜炎またはドライアイ等の種々の疾患により引き起こされた角膜上皮欠損は、混合感染の併発がなければ自然に修復する。しかし、何らかの理由で修復が遅延したりあるいは修復が行われずに上皮欠損が遷延化すると、上皮の正常な構築に悪影響を与えるのみならず、実質や内皮の構造や機能まで害される。従来からの治療法の原理は、外界の刺激から角膜表面を保護することにより自然に上皮が伸展して欠損部の再被覆をはかるという受動的なものである。近年、細胞生物学の発展に伴い、細胞の分裂・移動・接着・伸展等に関与する因子が解明されており、角膜上皮欠損の修復には、角膜上皮の伸展を促進する化合物が重要な役割を担うことが報告されている（臨眼，46，738-743（1992）、眼科手術，5，719-727（1992））。

【0004】ところで、細胞は外界シグナルに応答して、細胞骨格や細胞接着装置をダイナミックに変化させて外界環境に適応させる。細胞骨格を形成する主要構成成分は、アクチン等からなるマイクロフィラメント、チューブリン等からなる微小管、ケラチン等からなる中間径フィラメントの3種類の線維構造である。これらは互いに密接に関係しながら、細胞接着、細胞形態、細胞質分裂、細胞の極性形成等の高次機能を担っている。

【0005】このうち、アクチン-マイクロフィラメント系の細胞骨格を制御していると考えられているのが、

低分子量G T P結合タンパクのサブファミリーの1つであるR h oファミリーである。R h oファミリーは、R h o、R a c、C d c 4 2等のメンバーから構成されており、細胞増殖因子等の細胞外シグナルの下流で作用している。最近、R h oに特異的な標的タンパクが同定され、細胞骨格と接着の制御機構（実験医学，16，1782-1788（1998））や細胞運動の制御機構（実験医学，16，2032-2039（1998））等、細胞現象の制御メカニズムが明らかにされつつある。

【0006】一方、R h oを特異的に活性化させる化合物としてリゾホスファチジン酸またはそのアシル誘導体が知られている（Cell，70，389-399（1992））。リゾホスファチジン酸またはそのアシル誘導体についてはさまざまな作用が報告されている。例えば、細胞とフィブロネクチンの結合を促進して細胞形態を調節すること（J. Cell Biol.，127，1447-1459（1994））、皮膚創傷時におけるフィブロネクチンの上皮細胞および内皮細胞への結合を促進すること（アメリカ特許5480877号明細書）、グリコサミノグリカン産生促進作用を有する皮膚活性化剤であり、化粧品および皮膚老化防止外用剤として有用であること（国際特許公開W O 9 5 / 3 5 0 9 0号公報）、乾癬などで生じる上皮細胞の過増殖を抑制すること（アメリカ特許5565439号明細書）、マクロファージを活性化し腫瘍における細胞壊死を抑制すること（アメリカ特許5149527号明細書）、アポトーシスを阻害し細胞の機能を維持または回復すること（国際特許公開W O 9 8 / 4 1 2 1 3号公報）等がある。

【0007】眼科領域においては、網膜色素上皮細胞の増殖を促進すること（Curr. Eye Res.，16，698-702（1997））、培養水晶体上皮細胞においてC a イオンの流入を促進すること（Cell. Signal.，9，609-616（1997））、角膜障害時に房水中のリゾホスファチジン酸またはそのアシル誘導体の量が増加することおよび正常な角膜実質細胞の増殖を促進すること（Am. J. Physiol.，274，C1065-C1074（1998））等が報告されている。

【0008】しかしながら、R h oと角膜上皮細胞との関係については報告されておらず、角膜上皮欠損の修復と深い関係がある角膜上皮の移動機構に対するR h o活性化作用を有する化合物の効果は無論知られていない。

## 【0009】

【発明が解決しようとする課題】上記のように、細胞現象の制御メカニズムに関与する低分子量G T P結合タンパクであるR h oの角膜上皮の移動機構への関与の研究を通じて、R h o活性化作用を有する化合物の角膜障害に対する作用、特に角膜上皮伸展に対する作用を調べることは非常に興味ある課題であった。

## 【0010】

【課題を解決するための手段】本発明者等はR h oの角膜上皮の移動機構への関与を検討するために、まずR h

○阻害剤の角膜上皮に及ぼす影響を検討した。その結果、R h o 阻害剤によって角膜上皮の伸展は完全に抑制され、角膜上皮の移動機構には低分子量 G T P 結合タンパクである R h o による細胞内骨格系タンパクの制御が関与していることが明らかとなった。

【0011】次に、R h o 活性化作用を有する化合物の角膜上皮に対する効果を検討したところ、優れた角膜上皮伸展に対する促進作用を有することを見いだした。

【0012】さらに、R h o 活性化作用を有する化合物と R h o 阻害剤を併用したところ、上記の角膜上皮伸展の促進はほぼ完全に抑制され、角膜上皮伸展に対する促進作用は、R h o 活性化作用に基づくものであることが確認された。

【0013】以上のことから、R h o 活性化作用を有する化合物が優れた角膜上皮伸展促進作用を有し、種々の要因により角膜が損傷を受けた状態にある角膜潰瘍、角膜上皮剥離、角膜炎またはドライアイ等の角膜障害の治療剤として有用であることが明らかとなった。

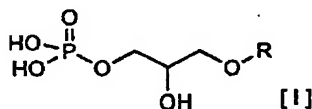
【0014】

【発明の実施の形態】本発明における R h o 活性化作用を有する化合物とは、R h o が関与している細胞現象の制御メカニズムを亢進させる化合物を示す。

【0015】本発明におけるリゾホスファチジン酸またはそのアシル誘導体とは下記一般式 [I] で表わされる化合物を示す。

【0016】

【化1】



【0017】〔式中、Rは水素原子またはアシル基を示す。〕

本発明におけるアシル基とは、飽和もしくは不飽和の脂肪酸カルボニル基または芳香族カルボニル基を示すが、好ましくは飽和もしくは不飽和の脂肪酸カルボニル基で、より好ましくは炭素数6以上の高級脂肪酸カルボニル基で、特に好ましい例はオレオイル基およびステアロイル基である。

【0018】本発明における角膜障害とは、種々の要因により角膜が損傷を受けた状態にある角膜潰瘍、角膜上皮剥離、角膜炎、ドライアイ等をいう。

【0019】R h o の角膜上皮の移動機構への関与を検討すべく、R h o 阻害剤ならびに R h o 活性化作用を有する化合物の角膜上皮に対する作用を検討した。詳細については後述の薬理試験の項で示すが、R h o 阻害剤として知られているボツリヌス菌の菌体外酵素である C 3 酵素（以下、Exoenzyme C3 とする）（Cell, 70, 389-399 (1992)）によって角膜上皮の伸展はほぼ完全に抑制されることを認めた。

【0020】このことから、角膜上皮の移動機構には低分子量 G T P 結合タンパクである R h o が関与していることが明らかとなった。

【0021】次に、R h o 活性化作用を有する化合物の代表的な化合物であるリゾホスファチジン酸またはそのアシル誘導体の角膜上皮伸展に対する効果を検討したところ、リゾホスファチジン酸またはそのアシル誘導体が角膜片の組織培養系における角膜上皮の伸展を促進することを見いだした。さらに、この角膜上皮伸展促進作用は Exoenzyme C3 によってほぼ完全に抑制されることが認められ、リゾホスファチジン酸またはそのアシル誘導体の有する角膜上皮伸展促進作用は R h o 活性化作用に基づくものであることが確認された。これらのことから、R h o 活性化作用を有する化合物は、優れた角膜上皮伸展促進作用を有し、角膜障害、すなわち種々の要因により角膜が損傷を受けた状態にある角膜潰瘍、角膜上皮剥離、角膜炎、ドライアイ等の治療に有用であることが明らかとなった。

【0022】R h o 活性化作用を有する化合物は、経口でも、非経口でも投与することができる。投与剤型としては、錠剤、カプセル剤、顆粒剤、散剤、注射剤、点眼剤等が挙げられ、特に点眼剤が好ましい。これらは汎用されている技術を用いて製剤化することができる。例えば、点眼剤は、塩化ナトリウム、濃グリセリン等の等張化剤、リン酸ナトリウム、酢酸ナトリウム等の緩衝化剤、ポリオキシエチレンソルビタンモノオレート、ステアリン酸ポリオキシシル 40、ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油等の界面活性剤、クエン酸ナトリウム、エデト酸ナトリウム等の安定化剤、塩化ベンザルコニウム、パラベン等の防腐剤等を必要に応じて用い調製することができる。p H は眼科製剤に許容される範囲内にあればよいが、4～8の範囲が好ましい。眼軟膏は、白色ワセリン、流動パラフィン等の汎用される基剤を用いて調製することができる。また、錠剤、カプセル剤、顆粒剤、散剤等の経口剤は、乳糖、結晶セルロース、デンプン、植物油等の増量剤、ステアリン酸マグネシウム、タルク等の滑沢剤、ヒドロキシプロピルセルロース、ポリビニルピロリドン等の結合剤、カルボキシメチルセルロースカルシウム、低置換ヒドロキシプロピルメチルセルロース等の崩壊剤、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、マクロゴール、シリコン樹脂等のコーティング剤、ゼラチン皮膚膜等の皮膚剤などを必要に応じて加えて調製することができる。

【0023】投与量は症状、年齢、剤型等によって適宜選択できるが、点眼剤であれば 0.0001～1% (w/v)、好ましくは 0.001～1% (w/v) のものを 1日1～数回点眼すればよい。また、経口剤であれば通常 1日当り 0.1～5000mg、好ましくは 1～1000mg を 1回または数回に分けて投与すればよい。

【0024】以下に、製剤例および薬理試験の結果を示

すが、これらの例は本発明をよりよく理解するためのものであり、本発明の範囲を限定するものではない。

【0025】

【実施例】〔製剤例〕Rh o活性化作用を有する化合物としてオレオイル リゾホスファチジン酸（以下、オレオイルLPAという）を用いた代表的な製剤例を以下に\*

処方例1（点眼液）

100ml中

オレオイルLPA

1mg

塩化ナトリウム

900mg

水酸化ナトリウム

適量

塩酸

適量

滅菌精製水

適量

【0028】処方例1と同様にして、必要に応じて界面活性剤や安定化剤を加えて、オレオイルLPAを100ml中5mg、10mg、50mg、100mg、50\*

\*示す。

【0026】1. 点眼剤

以下の処方点眼剤を汎用される方法を用いて調製した。

【0027】

※0mg、1000mg含有する点眼液を調製することができる。

【0029】

処方例2（眼軟膏）

100g中

オレオイルLPA

100mg

白色ワセリン

90g

流動パラフィン

適量

【0030】処方例2と同様にして、オレオイルLPAを1mg、5mg、10mg、50mg含有する眼軟膏★

★を調製することができる。

【0031】

処方例3（錠剤）

100mg中

オレオイルLPA

10 mg

乳糖

59.4mg

トウモロコシデンプン

20 mg

カルボキシメチルセルロース カルシウム

6 mg

ヒドロキシプロピルセルロース

4 mg

ステアリン酸 マグネシウム

0.6mg

【0032】上記処方の錠剤に、ヒドロキシプロピルセルロース等のコーティング剤2mgを用いてコーティングを施し、目的とするコーティング錠を得ることができる。

【0033】処方例3と同様にして、オレオイルLPAを100mg中0.1mg、0.5mg、1mg、5mg、50mg含有する錠剤を得ることができる。

【0034】〔薬理試験〕

角膜上皮伸展に対する作用（in vitro）

雄性日本白色ウサギの角膜を用い、Nishida らの方法（J. Cell Biol., 97, 1653-1657 (1983)）に準じ、角膜片の組織培養系での角膜上皮伸展長を指標にして角膜上皮伸展に対する下記被験化合物の影響を検討した。

【0035】（実験方法）ウサギ角膜片より切り出した

角膜ブロックを、被験化合物を含む培養液（TC-199）中、37℃・5%CO<sub>2</sub>の条件下で24時間培養した。培養後、角膜ブロックをエタノール-氷酢酸（容積比95：5）混合液中で固定し、パラフィンで包埋して切片を作製した。切片を脱パラフィンした後、ヘマトキシリン-エオジン染色し、顕微鏡下で上皮細胞層の伸展長を測定した。

【0036】コントロールとしては被験化合物を含まない培養液で同様に培養したものを用いた。

【0037】（結果1）Rh o阻害剤である Exoenzyme C3 を被験化合物として含む培養液で培養したときの結果を表1に示す。

【0038】

【表1】

	伸展長 (μm)
コントロール	454
Exoenzyme C3 (2 μg/ml)	186

(表中のデータは6例の平均値)

【0039】表1から判るように、Rho阻害剤である Exoenzyme C3 を含む培養液で培養をすると、角膜上皮の伸展はほぼ完全に抑制され、角膜上皮伸展にRhoが関与していることが明らかとなった。

\* 2 μMの濃度のオレオイルLPAを被験化合物として含む培養液で培養したときの結果を表2に示す。

【0041】

10 【表2】

【0040】(結果2) 0.02 μM、0.2 μMおよび\*

	伸展長 (μm)
コントロール	454
オレオイルLPA (0.02 μM)	528
(0.2 μM)	658
(2 μM)	712

(表中のデータは6例の平均値)

【0042】表2から判るように、オレオイルLPAを 20×3 をオレオイルLPAとともに培養液に添加したときの含む培養液で培養をすると、角膜上皮の伸展が濃度依存的に顕著に促進されることが認められた。

結果を表3に示す。

【0044】

【0043】(結果3) 被験化合物として Exoenzyme C※

【表3】

	伸展長 (μm)
コントロール	454
Exoenzyme C3 (2 μg/ml)	
+ オレオイルLPA (0.02 μM)	185
+ オレオイルLPA (0.2 μM)	182
+ オレオイルLPA (2 μM)	198

(表中のデータは6例の平均値)

【0045】表3から判るように、Rho阻害剤である Exoenzyme C3 をオレオイルLPAとともに培養液に添加すると、角膜上皮の伸展はほぼ完全に抑制された。

【0046】これらのことから、角膜上皮伸展促進作用はRhoの活性化作用に基づくものであることが確認された。

【0047】

★

★【発明の効果】上記の薬理試験から、Rho活性化作用を有する化合物が優れた角膜上皮伸展促進作用を有し、角膜上皮の創傷治癒促進作用を通じて、種々の要因により角膜が損傷を受けた状態にある角膜潰瘍、角膜上皮剥離、角膜炎またはドライアイ等の角膜障害の治療剤として有用であることが見いだされた。

フロントページの続き

(72)発明者 中村 雅胤  
奈良県奈良市三松2丁目12番3-205号

Fターム(参考) 4C084 AA17 NA14 ZA332  
4C086 AA01 AA02 DA34 NA14 ZA33

\* NOTICES \*

JPO and NCIPi are not responsible for any damages caused by the use of this translation.

- 1.This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.
- 2.\*\*\*\* shows the word which can not be translated.
- 3.In the drawings, any words are not translated.

---

DETAILED DESCRIPTION

---

[Detailed Description of the Invention]

[0001]

[Field of the Invention] This invention relates to the cornea failure therapy agent which made the active principle the compound which has a Rho activation operation of lysophosphatidic acid or its acyl derivative and which has a promotion operation of epithelium-antierius-corneae expansion.

[0002]

[Description of the Prior Art] A cornea is the organization of a transparent non-blood vessel with a diameter [ of about 1cm ], and a thickness of about 1mm. The transparency of a cornea has had effect important for a visual function, and the various physiology biochemical phenomena in a cornea are functioning mainly for the purpose of saying [ maintenance of the transparency of a cornea ].

[0003] The epithelium-antierius-corneae deficit caused by various diseases, such as a corneal ulcer, epithelium-antierius-corneae exfoliation, keratitis, or dry eye, will be automatically restored, if there is no concurrence of mixed infection. However, if restoration is delayed by a certain reason or an epithelium deficit prolongment-izes, without performing restoration, it not only has a bad influence on normal construction of an epithelium, but it will be injured to the structure and the function of parenchyma or an inner bark. By protecting a cornea front face from a stimulus of the external world, an epithelium extends with nature and the principle of the cure from the former aims at [ passive ] recovering of the deficit section. In recent years, the factor which participates in fission, migration, adhesion, expansion, etc. of a cell is solved with development of cell biology, and it is reported to restoration of an epithelium-antierius-corneae deficit that the compound which promotes expansion of the epithelium antierius corneae bears an important role (\*\*\*\*, 46, 738-743 (1992), an ophthalmology operation, 5, and 719-727 (1992)).

[0004] By the way, a cell answers an external world signal, changes a cytoskeleton and cell adhesion equipment dynamically, and is fitted to an external world environment. The main constituents which form a cytoskeleton are three kinds of fiber structures of an intermediate filament which consist of microtubules which consist of a microfilament which consists of an actin etc., tubulin, etc., keratins, etc. These are bearing high order functions, such as cell adhesion, a cell gestalt, cytokinesis, and polar formation of a cell, being closely related mutually.

[0005] Among these, it is thought the Rho family which is one of the subfamilies of low-molecular-weight GTP joint protein that the cytoskeleton of an actin-microfilament system is controlled. The Rho family consists of members of Rho, Rac, and Cdc42 grade, and is acting on the lower stream of a river of extracellular signals, such as a cell growth factor. Recently, specific target protein is identified by Rho and the control mechanism of cell (1998) phenomena, such as a controlling mechanism (the experimental medicine, 16, and 1782-1788 (1998)) of a cytoskeleton and adhesion and a controlling mechanism (the experimental medicine, 16, and 2032-2039) of cell movement, is clarified.

[0006] On the other hand, lysophosphatidic acid or its acyl derivative is known as a compound which activates Rho specifically (Cell, 70, and 389-399 (1992)). Various operations are reported about lysophosphatidic acid or its acyl derivative. For example, the thing for which association of a cell and fibronectin is promoted and a cell gestalt is adjusted (J.Cell Biol., 127, and 1447-1459 (1994)), Association to the epithelial cell and endothelial cell of fibronectin at the time of a skin wound is promoted (U.S. JP,5480877,B specification), It is the skin activator which has a glycosaminoglycan production promotion operation, and useful (International Patent Publication WO 95/No. 35090 official report) as the charge of makeup, and skin aging prevention external preparations, Fault growth of the epithelial cell produced in psoriasis etc. is controlled (U.S. JP,5565439,B specification), Activating a macrophage and controlling the necrocytosis in a neoplasm (U.S. JP,5149527,B specification) and apoptosis may be checked, and the function of a cell may be maintained or recovered (International Patent Publication WO 98/No. 41213 official report).

[0007] Growth of a retinal-pigment-epithelium cell is promoted in an ophthalmology field (Curr.Eye Res., 16, and 698-

702 (1997)), The inflow of calcium ion is promoted in a culture lens epithelial cell (Cell.Signal., 9, and 609-616 (1997)), Promoting that the lysophosphatidic acid in aqueous humor or the amount of the acyl derivative increases at the time of a cornea failure and growth of the normal keratocyte (Am.J.Physiol., 274, and C1065-C1074) etc. is reported (1998).

[0008] However, the relation between Rho and a cornea epithelial cell is not reported, and, of course, the effectiveness of a compound of having restoration of an epithelium-antierius-corneae deficit and the Rho activation operation over the migration device of the epithelium antierius corneae with close relation is not known.

[0009]

[Problem(s) to be Solved by the Invention] As mentioned above, it was a very interesting technical problem to investigate the operation over the cornea failure of a compound of having a Rho activation operation, especially the operation over epithelium-antierius-corneae expansion, through research of the intervention to the migration device of the epithelium antierius corneae of Rho which is the low-molecular-weight GTP joint protein which participates in the control mechanism of a cell phenomenon.

[0010]

[Means for Solving the Problem] this invention person etc. considered the effect affect the epithelium antierius corneae of a Rho inhibitor first, in order to consider the intervention to the migration device of the epithelium antierius corneae of Rho. Consequently, expansion of the epithelium antierius corneae was completely controlled with the Rho inhibitor, and it became clear that control of the cell endoskeleton system protein by Rho which is low-molecular-weight GTP joint protein is participating in the migration device of the epithelium antierius corneae.

[0011] Next, when the effectiveness over the epithelium antierius corneae of a compound which has a Rho activation operation was examined, it found out having the promotion operation over the outstanding epithelium-antierius-corneae expansion.

[0012] Furthermore, when the compound and Rho inhibitor which have a Rho activation operation were used together, promotion of the above-mentioned epithelium-antierius-corneae expansion was controlled nearly completely, and it was checked that the promotion operation over epithelium-antierius-corneae expansion is a thing based on a Rho activation operation.

[0013] It has the epithelium-antierius-corneae expansion promotion operation in which the compound which has a Rho activation operation was excellent from the above thing, and it became clear that it is useful as a therapy agent of cornea failures, such as a corneal ulcer in the condition that the cornea received damage according to various factors, epithelium-antierius-corneae exfoliation, keratitis, or dry eye.

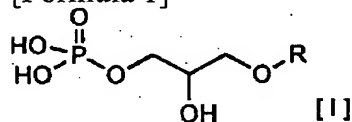
[0014]

[Embodiment of the Invention] The compound which has the Rho activation operation in this invention shows the compound which accelerates the control mechanism of the cell phenomenon in which Rho is involving.

[0015] The lysophosphatidic acid in this invention or its acyl derivative shows the compound expressed with the following general formula [I].

[0016]

[Formula 1]



[0017] [-- R shows a hydrogen atom or an acyl group among a formula.]

although the acyl group in this invention shows the aliphatic series carbonyl group or aromatic series carbonyl group of saturation or partial saturation -- desirable -- the aliphatic series carbonyl group of saturation or partial saturation -- it is -- more -- desirable -- a with a carbon numbers of six or more high-class aliphatic series carbonyl group -- it is -- especially a desirable example -- me -- they are an oil radical and a stearyl radical.

[0018] The cornea failure in this invention means the corneal ulcer in the condition that the cornea received damage according to various factors, epithelium-antierius-corneae exfoliation, keratitis, dry eye, etc.

[0019] The operation over the epithelium antierius corneae of a compound which has a Rho inhibitor and a Rho activation operation was considered that the intervention to the migration device of the epithelium antierius corneae of Rho should be considered. Although the term of the below-mentioned pharmacological test showed for details, it was admitted that expansion of the epithelium antierius corneae was controlled nearly completely with C3 enzyme (hereafter referred to as Exoenzyme C3) (Cell, 70, and 389-399 (1992)) which is the extracellular enzyme of the Clostridium



botulinum known as a Rho inhibitor.

[0020] It became clear from this that Rho which is low-molecular-weight GTP joint protein is participating in the migration device of the epithelium antierius corneae.

[0021] Next, when the effectiveness over epithelium-antierius-corneae expansion of the lysophosphatidic acid which is the typical compound of the compound which has a Rho activation operation, or its acyl derivative was examined, lysophosphatidic acid or its acyl derivative found out promoting expansion of the epithelium antierius corneae in the tissue culture system of the piece of a cornea. Furthermore, this epithelium-antierius-corneae expansion promotion operation Exoenzyme C3 Having been controlled nearly completely was admitted and it was checked that the epithelium-antierius-corneae expansion promotion operation which lysophosphatidic acid or its acyl derivative has is a thing based on a Rho activation operation. From these things, the compound which has a Rho activation operation has the outstanding epithelium-antierius-corneae expansion promotion operation, and it became clear that it is useful for the therapy of the corneal ulcer in a cornea failure, i.e., the condition that the cornea received damage according to various factors, epithelium-antierius-corneae exfoliation, keratitis, dry eye, etc.

[0022] The compound which has a Rho activation operation can prescribe it for the patient, even if taking orally is also parenteral. As an administration pharmaceutical form, a tablet, a capsule, a granule, powder, injections, ophthalmic solutions, etc. are mentioned, and especially ophthalmic solutions are desirable. These can be pharmaceutical-preparation-ized using the technique currently used widely. For example, ophthalmic solutions can use for and prepare antiseptics, such as stabilizing agents, such as surface active agents, such as buffer-ized agents, such as isotonicizing agents, such as a sodium chloride and concentrated glycerin, sodium phosphate, and sodium acetate, polyoxyethylene sorbitan mono-olate, polyoxyl 40 stearate, and polyoxyethylene hydrogenated castor oil, a sodium citrate, and disodium edetate, a benzalkonium chloride, and paraben, etc. if needed. Although there should just be pH within limits permitted by ophthalmology pharmaceutical preparation, the range of 4-8 is desirable. An eye ointment can be prepared using bases used widely, such as white vaseline and a liquid paraffin. Moreover, oral agents, such as a tablet, a capsule, a granule, and powder, are binders, such as lubricant, such as extending agents, such as a lactose, crystalline cellulose, starch, and vegetable oil, magnesium stearate, and talc, hydroxypropylcellulose, and a polyvinyl pyrrolidone, and a carboxymethyl cellulose. In addition, \*\*\*\* preparation of the film forming agents, such as coating agents, such as disintegrator, such as calcium and low permutation hydroxypropyl methylcellulose, hydroxypropyl methylcellulose, macro gall, and silicon resin, and a gelatin coat, etc. can be carried out if needed.

[0023] What is necessary is just to apply eyewash 1 to several times per day in 0.001 - 1% (w/v) of thing preferably 0.0001 to 1% (w/v), if it is ophthalmic solutions although a dose can be suitably chosen by the symptom, age, a pharmaceutical form, etc. Moreover, what is necessary is just to usually prescribe preferably 0.1-5000mg [ per day ] 1-1000mg for the patient in 1 time or several steps, if it is an oral agent.

[0024] Although the result of the example of pharmaceutical preparation and a pharmacological test is shown below, these examples are for understanding this invention better, and do not limit the range of this invention.

[0025]

[Example] as the compound which has a [example of pharmaceutical preparation] Rho activation operation -- me -- oil The typical example of pharmaceutical preparation using lysophosphatidic acid (the following and I -- it is called Oil LPA) is shown below.

[0026] 1. It prepared using the approach of having the ophthalmic solutions of the formula below ophthalmic solutions used widely.

[0027]

The example 1 (eye lotions) of a formula

The inside of 100ml me -- oil LPA 1mg A sodium chloride 900mg A sodium hydroxide Optimum dose Hydrochloric acid Optimum dose Sterile purified water Optimum dose [0028] the example 1 of a formula -- the same -- carrying out -- the need -- responding -- a surfactant and a stabilizing agent -- in addition, me -- 5mg, 10mg, and 500mg of 100mg of 50mg of eye lotions contained 1000mg can be prepared for Oil LPA among 100ml.

[0029]

The example 2 (eye ointment) of a formula

inside of 100g me -- oil LPA 100mg White vaseline 90g Liquid paraffin Optimum dose [0030] the example 2 of a formula -- the same -- carrying out -- me -- the eye ointment containing 1mg of 5mg of 10mg of 50mg of oil LPA can be prepared.

[0031]

The example 3 (tablet) of a formula

The inside of 100mg me -- oil LPA 10 mg A lactose 59.4mg Corn starch 20 mg Carboxymethyl cellulose Calcium 6

mg Hydroxypropylcellulose 4 mg Stearin acid Magnesium 0.6mg [0032] 2mg of coating agents, such as hydroxypropylcellulose, can be used for the tablet of the above-mentioned formula, coating can be performed, and the target coated tablet can be obtained.

[0033] the example 3 of a formula -- the same -- carrying out -- me -- 0.1mg and 5mg of 1mg of 0.5mg of tablets contained 50mg can be obtained for Oil LPA among 100mg.

[0034] [Pharmacological test]

The operation over epithelium-antierius-corneae expansion (inch vitro)

the cornea of a male Japan white rabbit -- using -- Nishida \*\* -- according to the approach (J.Cell Biol., 97, and 1653-1657 (1983)), the epithelium-antierius-corneae expansion length in the tissue culture system of the piece of a cornea was made into the index, and the effect of the following test compound to epithelium-antierius-corneae expansion was considered.

[0035] (The experiment approach) The inside of the culture medium (TC-199) which includes the cornea block started from the piece of a rabbit cornea for a test compound, 37 degree C and 5%CO<sub>2</sub> It cultivated under conditions for 24 hours. The cornea block was fixed in ethanol-glacial-acetic-acid (volume ratio 95:5) mixed liquor after culture, embedding was carried out from paraffin, and the intercept was produced. After carrying out deparaffinization of the intercept, the hematoxylin and eosin stain was carried out and the expansion length of an epithelial cell layer was measured under the microscope.

[0036] What was similarly cultivated with the culture medium which does not contain a test compound as control was used.

[0037] (Result 1) It is a Rho inhibitor. Exoenzyme C3 The result when cultivating with the culture medium included as a test compound is shown in Table 1.

[0038]

[Table 1]

	伸展長 (μm)
コントロール	4 5 4
Exoenzyme C3 (2 μg/ml)	1 8 6

(表中のデータは6例の平均値)

[0039] It is a Rho inhibitor as shown in Table 1. Exoenzyme C3 When cultivated with the included culture medium, expansion of the epithelium antierius corneae was controlled nearly completely, and it became clear that Rho is participating in epithelium-antierius-corneae expansion.

[0040] (Result 2) me of the concentration of 0.02microM, 0.2microM, and 2microM -- the result when cultivating Oil LPA with the culture medium included as a test compound is shown in Table 2.

[0041]

[Table 2]

	伸展長 (μm)
コントロール	4 5 4
オレオイルLPA (0.02 μM)	5 2 8
(0.2 μM)	6 5 8
(2 μM)	7 1 2

(表中のデータは6例の平均値)

[0042] Table 2 shows -- as -- me -- if it cultivates with the culture medium containing Oil LPA -- expansion of the epithelium antierius corneae -- concentration -- having been promoted notably anacritic was admitted.

[0043] (Result 3) as a test compound Exoenzyme C3 me -- the result when adding to culture medium with Oil LPA is shown in Table 3.

[0044]

[Table 3]

	伸展長 (μ m)
コントロール	4 5 4
Exoenzyme C3 (2 μ g / m l)	
+ オレオイル L P A (0. 0 2 μ M)	1 8 5
+ オレオイル L P A (0. 2 μ M)	1 8 2
+ オレオイル L P A (2 μ M)	1 9 8

(表中のデータは 6 例の平均値)

[0045] it is a Rho inhibitor as shown in Table 3 Exoenzyme C3 me -- when it added to culture medium with Oil LPA, expansion of the epithelium antierius corneae was controlled nearly completely.

[0046] From these things, it was checked that an epithelium-antierius-corneae expansion promotion operation is a thing based on an activation operation of Rho.

[0047]

[Effect of the Invention] It was found out that it is useful as a therapy agent of cornea failures, such as a corneal ulcer in the condition that have the epithelium-antierius-corneae expansion promotion operation excellent in the compound which has a Rho activation operation, and the cornea received damage from the above-mentioned pharmacological test according to various factors through the wound healing promotion operation of the epithelium antierius corneae, epithelium-antierius-corneae exfoliation, keratitis, or dry eye.

[Translation done.]